

# ANTI JAMUR HASIL FERMENTASI *Streptomyces* Isp. 192 PADA MEDIA PATI DAN GLUKOSA

S. Djajasupena<sup>1</sup>, O. Suprijana<sup>1</sup>, S.A. Desak Gede<sup>2</sup> dan A.T. Karossi<sup>2</sup>

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Pajajaran (UNPAD) Bandung  
Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bandung

## INTISARI

*Streptomyces* ISP 192 termasuk dalam kelompok Actinomycetes yang secara industri merupakan mikroorganisme bernilai tinggi karena kemampuannya dalam memproduksi bahan bioaktif yang sangat berguna bagi dunia pengobatan yaitu antibiotik. Saat ini antibiotik masih merupakan obat terpilih untuk menanggulangi penyakit infeksi, namun makin banyak organisme penyebab infeksi yang resisten terhadap berbagai antibiotik sehingga perlu dicari antibiotika baru. Penelitian ini meliputi pembiakan *Streptomyces* ISP 192 pada medium potato dextrose agar (PDA) kemudian difermentasi menggunakan labu kocok 250 mL dengan volume kerja 50 mililiter. Mikroba diinokulasikan ke dalam media fermentasi MF1 dan MF2 yang mengandung (%)w/v variasi pati dan glukosa sebagai sumber karbon serta (%)v/v variasi inokulum. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 30°C dengan kecepatan pengocokan 150 putaran per menit selama tujuh hari. Setiap hari diambil sampel dan ditentukan pH, kadar glukosa, kadar protein, berat sel kering serta aktivitas anti jamur terhadap *Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton* sp. dan *Aspergillus niger*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Streptomyces* ISP 192 mempunyai aktivitas anti jamur yang tinggi terhadap *Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton* sp., pada media fermentasi MF2 dengan 10 % glukosa sebagai sumber karbon dan 10% inokulum, tetapi tidak memberi hambatan pada *Aspergillus niger*. Biosintesis antibiotik anti jamur mulai terjadi pada hari ke 4 sampai hari ke 6 ditandai dengan penurunan konsentrasi glukosa, protein dan pH.

**Kata kunci :** *Streptomyces* ISP 192, fermentasi, uji aktivitas anti jamur

## ABSTRACT

*Streptomyces* ISP 192 was family of Actinomycetes which was high value microorganism that industrially important because it was capable for producing of bioactive compound that very useful in the field of medicine that is antibiotic. Recently antibiotic is still eligible medicine to overcome infection disease, but many more organism that cause of infection have been resistant against various antibiotics so need to look for a new antibiotic. This research cover cultivation of *Streptomyces* ISP 192 in potato dextrose agar (PDA) medium then fermentation by 250 mL shake flask with 50 ml working volume. Microorganism was inoculated in fermentation medium MF1 and MF2 that contain (%)w/v variation of starch and glucose to be a source of carbon as soon as (%)v/v variation of inoculum. Fermentation process was conducted in 30°C temperature with 150 rpm shaking for seven days. Regularly for each 24 hour, sample was taken for analyzing of pH, glucose and protein concentration, dry weight of cell and testing of anti fungal activity against *Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton* sp. dan *Aspergillus niger*. The result of research showed *Streptomyces* ISP 192 has high anti fungal activities against *Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton* sp., in usage of fermentation media MF2 with 10 % glucose to be a carbon source and 10% inoculum but not have activated against *Aspergillus niger*. Biosynthesis of antibiotic anti fungal start from 4th to 6th day that indication in decreasing of glucose and protein concentration as well as pH.

**Keywords :** *Streptomyces* ISP 192, fermentation, testing of anti fungal activities



## PENDAHULUAN

Di Indonesia dewasa ini kebutuhan antibiotik cenderung makin meningkat, berkaitan dengan bertambahnya jumlah penduduk yang pada tahun 2005 berjumlah 219 juta jiwa dan diproyeksikan pada tahun 2020 berjumlah sekitar 252 juta jiwa. Selain itu juga, karena peningkatan ekonomi, jangkauan pelayanan kesehatan atau pengetahuan kesehatan dari masyarakat yang semakin membaik. Sementara bahan baku untuk pembuatan antibiotik masih didatangkan dari luar negeri (Shastri, 1984; Mulyono, dkk., 1987; anonim, 2005; anonim, 2006).

Lebih dari 90% antibiotik yang dihasilkan dari berbagai spesies *Streptomyces* digunakan untuk terapi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Tetapi karena adanya resistensi kuman yang timbul akibat adanya mutan-mutan baru, maka sering mengakibatkan antibiotik tidak bisa digunakan sesuai dosis anjurannya. Antibiotik tidak efektif lagi dalam dosis anjurannya (Betina, 1983; Suwandi, 1989, 1992).

Nistatin dan Amphoterasin adalah contoh obat anti jamur komersial yang diproduksi oleh *Streptomyces noursei* dan *Streptomyces nodosus*.

Melihat kebutuhan *Streptomyces sp.* akan media yang spesifik untuk pertumbuhannya agar dapat menghasilkan antibiotik anti jamur, maka pada penelitian ini akan dilakukan produksi anti jamur oleh *Streptomyces* ISP 192 melalui proses fermentasi dengan studi dua macam variasi media yaitu MF1 dengan pati sebagai sumber karbon dan MF2 dengan glukosa sebagai sumber karbon serta dua macam konsentrasi kultur (5% dan 10%).

## BAHAN DAN METODA

### Mikroorganisme

*Streptomyces* ISP 192 digunakan sebagai strain penghasil antibiotika anti jamur.

*Candida albican*, *Aspergillus niger*, *Microsporum gypseum* dan *Tricophyton sp.* digunakan sebagai strain uji aktivitas anti jamur

### Media peliharaan

Semua strain dipelihara dalam media potato dextrose agar (PDA). Media PDA dipanaskan sampai homogen, kemudian dimasukkan dalam tabung-tabung reaksi lalu disterilisasi pada 120°C, selama 20 menit. Tabung dimiringkan dan setelah dingin diinokulasikan dengan biakan lalu diinkubasi pada 30°C selama 5 hari.

### Media sporulasi

Isolat agar miring *Streptomyces* ISP 192 disuspensi dalam air steril dengan konsentrasi 5 dan 10% lalu diinokulasi ke dalam media aktivasi yang mengandung glukosa, pepton, natrium klorida, kalium hidrofosfat, magnesium sulfat, masukkan dalam erlenmeyer ukuran 250 mL dengan volume kerja 50 mL kemudian diinkubasi dalam shaker inkubator pada 30°C dengan pengadukan 150 rpm selama 48 jam.

### Kurva pertumbuhan

Sebelum memproduksi anti jamur secara fermentasi dilakukan analisa terhadap pertumbuhan mikroba optimum dengan cara: mengukur absorbansi hasil sampling media sporulasi setiap 2 jam sekali dengan spektrometer pada panjang gelombang 240 – 600 nm selama 48 jam, penentuan berat kering dengan cara pengeringan 1 mL sampel pada suhu 70°C selama 24 jam dan metode *total plate counts* (TPC) dengan



cara menanamkan sampel dari media sporulasi pada media PDA dari pengenceran  $10^{-1}$ - $10^{-6}$ . Jumlah koloni dihitung antara 30-300.

### Media fermentasi

Untuk memproduksi antibiotik anti jamur digunakan variasi media fermentasi terdiri dari:

MF1: pati, kasein, kalium nitrat, natrium klorida, kalium hidrogen fosfat, magnesium sulfat, kalsium karbonat, dan fero sulfat. MF2: glukosa, ammonium sulfat, magnesium sulfat, kalium hidrogen fosfat, kalsium karbonat, natrium hidrogen fosfat, mangan sulfat, seng sulfat dan ekstrak ragi. Media difermentasi dalam erlenmeyer ukuran 250 mL dengan volume kerja 50 mL pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ , pengocokan 150 rpm selama 7 hari. Sampling dilakukan setiap hari untuk pengukuran terhadap pH media, kadar glukosa dengan metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji dkk, 1976), kadar protein dengan dengan metode Lowry (Hartree, 1972) dan uji aktivitas anti jamur (Ronald, 1995).

### Uji aktivitas anti jamur

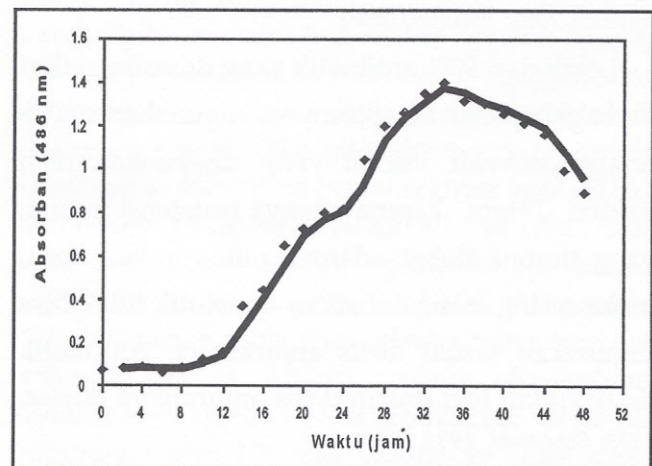
Uji aktivitas anti jamur dilakukan dengan pembanding anti jamur komersial ketoconazole dan griseovulvin. Sebanyak  $100\mu\text{L}$  jamur uji ditanam secara merata dalam plat agar, bersamaan dengan menanamkan cairan hasil fermentasi secara difusi agar ke dalam sumur-sumur yang berdiameter 6 mm dalam plat agar, lalu diinkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 5 hari, kemudian dilihat adanya daerah bening disekitar sumur-sumur. Luas daya hambat dari mikroba merupakan suatu cincin, dimana perhitungannya:  $\text{Luas daya hambat} = \pi R L^2 - \pi R D^2$

Dimana:  $\pi = 3,14$ ;  $RL$  = jari-jari lingkaran luar;  $RD$  = jari-jari lingkaran dalam

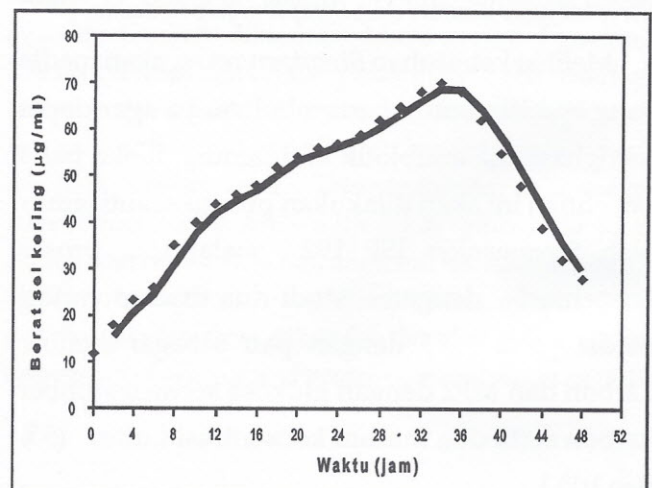
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil proses fermentasi dari media

fermentasi dan kultur aktivasi, dengan pengukuran pH, kadar glukosa dan kadar protein yang paling baik adalah media fermentasi MF2 dengan glukosa sebagai sumber karbon dan konsentrasi kultur aktivasi 10%. Daya hambat anti jamur dari hasil fermentasi terhadap *Candida albicans* hari ke 4 dan 5 hampir sama (Gambar 4), *Microsporum gypseum* pada hari ke 5 (Gambar 5) dan *Tricophyton sp.* pada hari ke 4 (Gambar 6), sedangkan terhadap *Aspergillus niger* tidak memberikan daya hambat. Pertumbuhan mikroorganisme optimum dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 486 nm, berat kering dan perhitungan jumlah mikroba secara TPC (Total Plate Count) dapat dilihat pada Gambar 1, 2 dan 3.

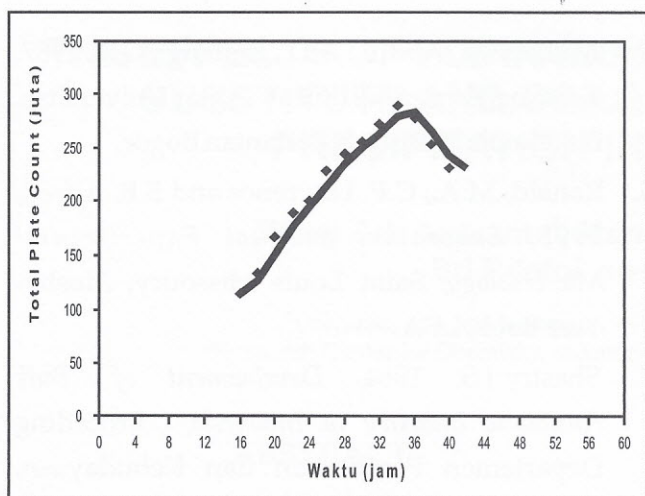


Gambar 1. Absorbansi sel Streptomyces ISP 192 pada  $\lambda$  486 nm



Gambar 2. Berat sel kering ( $\mu\text{g/mL}$ ) Streptomyces ISP 192 pada  $70^{\circ}\text{C}$ , 24 jam

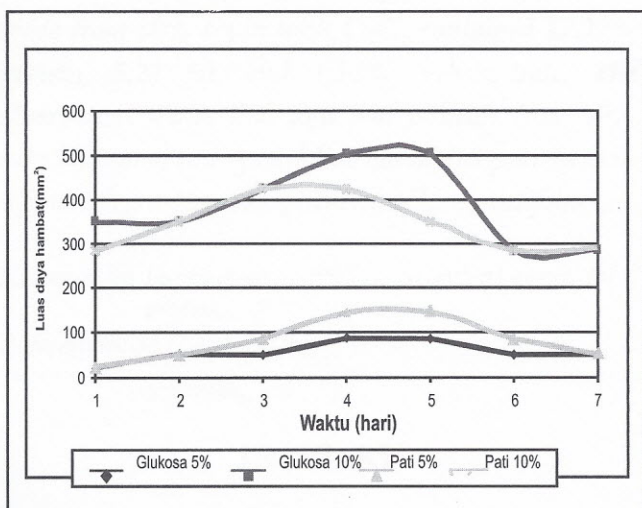




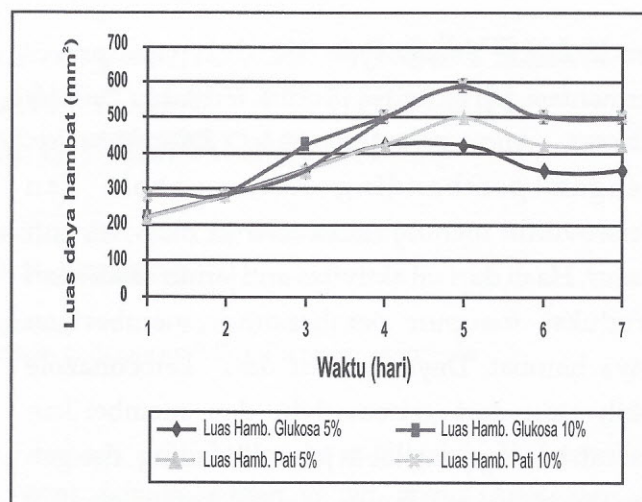
Gambar 3. Total plate count (TPC) *Streptomyces* ISP 192

Pada Gambar 1, 2 dan 3, pertumbuhan optimum terlihat pada jam ke 34. Pada jam ke 34 ini, mikroba menghasilkan metabolit tertingginya untuk anti jamur yang kemudian akan diperbanyak produksinya pada media fermentasi.

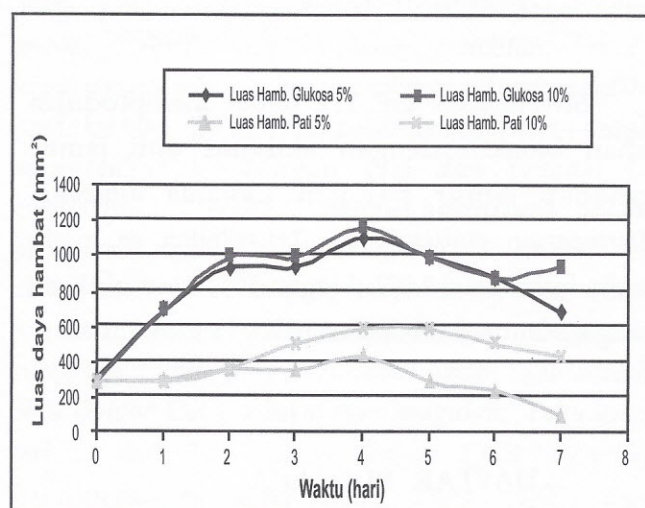
Pada Gambar 4, 5 dan 6, dapat dilihat fermentasi yang paling baik diperoleh dengan menggunakan media glukosa sebagai sumber karbon dengan konsentrasi kultur 10%. Aktivitas anti jamur optimum terhadap *Candida albicans* diperoleh pada hari ke 4, *Microsporum gypseum* pada hari ke 5 dan *Tricophyton sp.* pada hari ke 4, sedangkan terhadap *Aspergillus niger* tidak memberikan hambatan.



Gambar 4. Luas daya hambat anti jamur hasil fermentasi *Streptomyces* ISP 192 terhadap *Candida albicans* pada variasi waktu



Gambar 5. Luas daya hambat anti jamur hasil fermentasi *Streptomyces* ISP 192 terhadap *Microsporum gypseum* pada variasi waktu.



Gambar 6. Luas daya hambat anti jamur hasil fermentasi *Streptomyces* ISP 192 terhadap *Tricophyton sp.* pada variasi waktu.

Produksi anti jamur dimulai pada hari ke 4 sampai hari ke 6 ditandai dengan penurunan konsentrasi glukosa dari 0.038 sampai 0.026  $\mu\text{g/mL}$ , konsentrasi protein dari 0.747 sampai 0.414  $\mu\text{g/mL}$  dan perubahan pH dari 5.82 sampai 5.96. Perubahan ini menunjukkan adanya pertumbuhan dan pembentukan sel-sel baru *Streptomyces* ISP 192 dan biosintesis antibiotik anti fungi dengan memanfaatkan sumber karbon pada glukosa dan sumber nitrogen pada ragi serta adanya akumulasi asam-asam organik hasil



metabolisme *Streptomyces* ISP 192 pada proses fermentasi. Uji aktivitas produk terhadap *Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton sp.* dengan pembanding Ketoconazole dan Griseovulfin menunjukkan adanya aktivitas anti jamur. Hasil dari uji aktivitas anti jamur baik hasil produksi maupun pembanding, memberikan daya hambat. Daya hambat dari ketoconazole lebih baik dari griseovulfin dan memberikan daerah bening yang lebih jelas dibanding dengan hasil produksi anti jamur. Hal ini karena produk anti jamur masih dalam bentuk ekstrak hasil fermentasi, sedangkan pembanding lebih murni.

### KESIMPULAN

*Streptomyces* ISP 192 dapat memproduksi bahan bioaktif dengan aktivitas anti jamur terhadap jamur patogen *Candida albicans*, *Microsporum gypseum* dan *Tricophyton sp.* pada media fermentasi MF2 dengan 10% w/v glukosa sebagai sumber karbon dan 10% v/v inokulum.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. 2005. *Kebijakan Obat Nasional (Konas)*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
2. Anonim. 2006. *Kebijakan Obat Nasional (Konas) - Obat*. Direktur Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat kesehatan. Lokakarya Nasional Perencanaan Pembangunan Kesehatan. Bandung
3. Betina, V. 1983. *The Chemistry and Biology of Antibiotics*. Elsvier Scientific Publishing Company, New York.
4. Hartree, E.F., *Anal Biochem* 48: 422 - (1972)
5. Muljono, J., Abdul, A.D., Endang, G.S., 1987. *Teknologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas, Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.
6. Ronald, M.A., C.P. Lawrence and E.B. Alfred, 1995, *Laboratory manual Experimental Microbiology*, Saint Louis Missouri, Mosby-Year Book, USA.
7. Shastry J.S. 1984, *Development of Bulk Antibiotic Industry in Indonesia*, Proceeding Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jurusan Farmasi, ITB, 126-129
8. Srikandi, F. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta; Gramedia Pustaka Utama
9. Sudarmadji, S., Haryono, B. dan Suhardi. 1976. *Analisa bahan makanan dan pertanian* Liberti Yogyakarta.
10. Suwandi, U.(b), 1989. *Mikroorganisme Penghasil Antibiotik*. Pusat Penelitian dan Pengembangan P.T. Kalbe Farma, Jakarta. Cermin Dunia Kedokteran No.58,73
11. Suwandi, U.©, 1992. *Mekanisme Kerja Antibiotik*. Pusat Penelitian Pengembangan P.T. Kalbe Farma, Jakarta. Cermin Dunia Kedokteran No. 76,57